

## Role of Nrf2 in host defense against influenza in cigarette smoke-exposed mice

著者	谷下田 雄一
内容記述	Thesis (Ph. D. in Medical Sciences)--University of Tsukuba, (B), no. 2558, 2011.8.31 Includes supplementary treatises Includes bibliographical references
発行年	2011
その他のタイトル	タバコ煙暴露マウスのインフルエンザ宿主防御反応におけるNrf2の役割
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/118053">http://hdl.handle.net/2241/118053</a>

氏 名 (本籍)	やげ た ゆう いち 谷下田 雄 一 (神奈川県)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 乙 第 2558 号
学位授与年月日	平成 23 年 8 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科
学 位 論 文 題 目	<b>Role of Nrf2 in Host Defense against Influenza in Cigarette Smoke-Exposed Mice</b> (タバコ煙曝露マウスのインフルエンザ宿主防御反応における Nrf2 の役割)

主	査	筑波大学教授	医学博士	浦 山 修
副	査	筑波大学教授	薬学博士	熊 谷 嘉 人
副	査	筑波大学准教授	博士 (医学)	柳 川 徹
副	査	筑波大学准教授	博士 (医学)	人 見 重 美

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

転写因子 Nrf2 は、抗酸化ストレス酵素群の誘導により、生体防御に働くことが知られている。インフルエンザウイルス (FluV) 感染はしばしば COPD などの慢性呼吸器疾患の急性増悪を引き起こす。本研究では、喫煙曝露に FluV 感染を組み合わせた肺炎モデルを作製し、その急性増悪に対する Nrf2 の役割について検討した。

### (対象と方法)

C57BL/6 系統の Nrf2<sup>-/-</sup> (欠損型) 及び Nrf2<sup>+/+</sup> (野性型) のマウスに、喫煙曝露やウイルス感染により肺炎症を惹起した。In vitro の実験では、Nrf2 欠損型と野性型マウスからそれぞれ腹腔マクロファージを採取し、タバコ煙抽出液 (CSE)、Toll-like receptor 3 agonist である poly (I:C)、あるいは両者で刺激し、それぞれのマクロファージの転写因子の活性化や炎症性サイトカイン/ケモカインの遺伝子とタンパクの発現変化を調べた。In vivo の実験では、欠損型と野性型について、コントロール群 (清浄空気曝露、FluV 非感染)、FluV 群 (清浄空気曝露、FluV 感染)、CS+FluV 群 (タバコ煙曝露、FluV 感染) の 3 群に分け、FluV 感染 7 日後の気管支肺胞洗浄液や肺組織の転写因子の活性化やサイトカイン/ケモカインの発現変化を比較検討した。次に、病理学的な評価、さらに免疫組織化学により Nrf2 の局在及び酸化ストレスマーカー 8-OHdG の産生・局在についても評価を加えた。

### (結果)

In vitro の実験: 野性型マクロファージに対する CSE 及び poly (I:C) の刺激はそれぞれ Nrf2 を活性化した。欠損型マクロファージに対する CSE 及び poly (I:C) の単独刺激さらにその共刺激は、それぞれ転写因子 NF-κB 活性化とその下流にある TNF-α 及び MIP-2 mRNA の発現を亢進し、その程度はいずれも野性型に比べ有意に高かった。In vivo の実験: CS+FluV 群の Nrf2 野性型マウスの肺組織では、CS 曝露後に抗酸化ストレス酵素遺伝子の誘導が認められ、Nrf2 の強い発現が肺マクロファージで観察されたが、欠損型マウスでは認められなかった。CS+FluV 群の欠損型マウスは野性型に比べ有意な生存率低下と体重減少を示した。

また、欠損型マウスでは肺組織中 8-OHdG の産生、NF- $\kappa$ B 活性化、及び TNF- $\alpha$ 、KC の発現がいずれも野性型に比べ亢進していた。さらに欠損型マウスでは、気道周囲に炎症性細胞浸潤が認められ、BALF タンパク量及び肺乾湿重量比や気道粘液分泌量も増加していた。

#### (考察)

本研究では、COPD のウイルス起因性急性増悪反応を想定し、Nrf2 欠損型と野性型マウスを用いて喫煙曝露と FluV 感染の際の肺炎症の進展増悪に対する Nrf2 の保護的役割について検討した。野性型マウスでは CS 曝露により抗酸化ストレス群遺伝子が誘導され、欠損型マウスでは喫煙曝露と FluV 感染により酸化ストレスが顕著であったことから、Nrf2 は、肺炎症の進展増悪時、生体防御に中心的役割を果たしていると考えられた。また喫煙曝露と FluV 感染群で観察された病理組織像が Nrf2 欠損型では重篤であったことを考え合わせると、重症 COPD 患者や高齢喫煙者における急性増悪に Nrf2 の破綻が関与している可能性が高く、Nrf2 は新規治療のターゲットとしても有望である。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

喫煙曝露やインフルエンザウイルス感染による肺炎症の進展増悪モデルにおいて、周到な実験計画と内容により、Nrf2 が酸化ストレス防御の中心的役割を果たしていることを検証した。審査委員会では、1) タバコ煙反復曝露の条件設定、2) タバコ煙による酸化ストレスのメカニズム、3) Nrf2 欠損ではなく逆に過剰発現させた場合の結果予想などについて質問があり、申請者は的確に答えていた。今回、Nrf2 が肺炎症の急性増悪の新規治療のターゲットとなる可能性が論じられているが、本研究の発展により、マクロファージの Nrf2 の活性化や発現変化を利用した新たな検査診断法の開発も期待できることを付け加えたい。

平成 23 年 7 月 5 日、博士（医学）学位論文審査専門委員会において審査委員全員出席のもとに学力の確認を行い、論文について説明をもとめ、関連事項について質疑応答を行った結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。